

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 9 月 29 日現在

機関番号：82601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790598

研究課題名(和文) 複数の遺伝子多型と生活習慣が肥満・生活習慣病発症に与える影響に関する疫学研究

研究課題名(英文) The combination of obesity-related SNPs and life-style factors are associated with development of lifestyle disease in Japanese male workers.

研究代表者

今任 拓也 (Imatoh, Takuya)

国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部・主任研究官

研究者番号：20368989

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：福岡県下のA企業の男性被保険者3648名を対象に、エネルギー代謝に関連する遺伝子であるアドレナリン受容体 2、アドレナリン受容体 3および脱共役蛋白 1 の遺伝子多型(SNP)の測定を行い、BMIおよび肥満との関連に関する疫学研究を実施した。それぞれのSNPとBMIなどの基本属性・BMI27.5以上の肥満割合に有意な違いが認められなかった。さらに3SNPのリスクアレル数の総和をGenetic risk scoreとし、3SNP間の相互作用について検討を行なった。リスクアレルが0の群をリファレンスとすると、1つでもリスクアレルを持つ群では、BMI27.5以上の肥満割合は、約3倍有意に高くなっていた。

研究成果の概要(英文)：We carried out an epidemiological study to elucidate the association between SNPs and obesity (Body Mass Index(BMI)  $\geq 27.5$ ) on 3648 Japanese male workers. We detected three SNPs of beta3 adrenergic receptor, beta2 adrenergic receptor and uncoupling protein-1. We observed important findings on the association between SNP and obesity.

Significant changes weren't found in average of basic characteristic variable, including BMI on each SNP. Next, we evaluated the contribution of genetic risk score, defined as the sum of alleles that increase the risk of obesity, by logistic regression analysis. The odds ratio of the genetic risk score = 1 group was significant higher than that of genetic risk score=0 group. We indicated that the combination of 3 SNPs may be stronger associated with obesity compared with each one.

研究分野：疫学

キーワード：遺伝疫学研究

### 1. 研究開始当初の背景

WHO の報告書では 1980 年より肥満患者の数は、約 2 倍にも増加しており、2008 年には、20 歳以上の成人の 14 億人以上が過体重であると報告されている。

肥満は予防できる疾患であるが、心筋梗塞やがんといった生活習慣病の強力なリスクファクターであり、その遺伝率は 40~50%と見積もられている。肥満の遺伝的な背景として、節約遺伝子説という考え方がある。約 450 万年前、我々の祖先が誕生して以来、いつ食べ物が入るかわからない環境に置かれていたために、摂取したエネルギーを効率よく体内に取り込み、飢餓に備えて生存に有利な仕組みが働いていたと考えられている。その仕組みの一つが節約遺伝子であり、常に食料のあふれた飽食である現在において、この遺伝子の影響により過剰栄養によるエネルギーが体内に蓄積して肥満を生ずると考えられている。その例として、元々は北アジアから数万年前にベーリング海峡をわたって、アメリカ大陸にやってきたとされているアメリカのアリゾナ州に居住するインディアンの一部族であるピマインディアンは、第 2 次世界大戦以降に高脂肪食中心の生活習慣になったのに伴い、現在では肥満や糖尿病の罹患率が 50%と高い。これに対し、昔ながらの生活を送っているメキシコ居住のピマインディアンは肥満や糖尿病が非常に少ない。

前述のピマインディアンにおける研究からは、腸管からの脂肪の吸収を促進する Fatty-acid binding protein-2、蓄積脂肪の分解に関わる  $\alpha$ -adrenergic receptor、熱産生を起こす脱共役蛋白(UCP)、さらに、現在では、Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR)、Receptor for advanced glycation end products (RAGE)、Lymphotoxin- などの多くの遺伝子多型が節約遺伝子の候補として挙げられている。

このように多くの遺伝子が肥満に関連していると考えられているが、個々の遺伝子多型による影響は比較的小さく、また、肥満をはじめとした生活習慣病は、多因子疾患として知られており、複数の遺伝子の交互作用により、遺伝子要因がより強力なリスクファクターとなることが考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究は、日本人男性労働者を対象とし、日本人において代表的な肥満関連遺伝子として報告されている  $\beta$  アドレナリン受容体(ADRB2)、 $\beta_3$  アドレナリン受容体(ADRB3)および UCP1 の 3 つの遺伝子多型に着目し、これら 3 つの遺伝子と肥満との関連を検討し、さらに、肥満におけるこれら 3 つの遺伝子多型の交互作用について検討を行った。

### 3. 研究の方法

対象者は、福岡県下の健康保険組合に加入している男性労働者で、定期健康診断を受診

した者とした。A 健康保険組合は 3 地区に分かれており、2011 年に A 地区、2012 年に B 地区、2013 年に C 地区で調査を実施した。それぞれの地区での対象者数は 1070 名、953 名、1733 名で、合計 3756 名であった。対象者には、トレーニングされた保健師により本研究の説明を行い、十分な理解のうえ、研究への参加の同意を得た。研究対象者のうち、3666 名から研究参加への同意が得た(参加率 97.6%)。研究参加者からは、既往歴、生化学データなどの健康診断のデータ、喫煙習慣、食習慣などの生活習慣に関するアンケートによる生活習慣に関するデータ、健康診断で採血された血液の余剰を血液サンプルとして得た。18 名から十分な血液サンプルを得ることができなかった。最終的に、解析対象者数は 3648 名であった。なお、本研究は、福岡大学医の倫理審査委員会の承認を得ている。

BMI は、体重(kg)÷身長(m)<sup>2</sup>から算出した。日本人を含む東アジア人において死亡率の増加が認められたカットオフポイントの BMI 27.5 以上を肥満とした(1)。研究参加者から得られた血液サンプルは、NucleoSpin® 8/96 Blood QuickPure (タカラバイオ)を用い、DNA を抽出した。抽出された DNA サンプルから QP 法またはインベダー法を用い、遺伝子多型を同定した。同定した遺伝子多型は、ADRB2(rs1042713)、ADRB3 (rs4994)、UCP1 (rs1800592)である。

### 統計

統計解析には、R for Windows ver.3.1.1 を用いた。多群間の平均値の比較には一元分散分析(one-way ANOVA)を用いた。離散変数の比較にはカイ二乗検定を用いた。3SNP と肥満との関連はロジスティック回帰分析を用いた。統計学的有意差は  $P < 0.05$  とし、多重検定については、Bonferroni 補正を用い、 $0.05/4=0.0125$  以下を統計学的有意差とした。

### 4. 研究成果

#### 結果

調査参加者のそれぞれの遺伝子多型の遺伝子型別の基本属性は表 1、表 2 および表 3 に示した。ADRB2、ADRB3、UCP1 SNP の Minor allele frequency は、それぞれ、48%、19%、49%であった。次に我々は、それぞれの SNP の genotype 毎の基本属性を比較した。まず、3SNP 共に Hardy-Weinberg 平衡は認められた ( $P$  値: 0.43(ADRB2)、0.88(ADRB3)、0.89(UCP1))。それぞれの SNP の遺伝子型において、BMI に統計学的に有意な差は認められなかった。さらに、年齢、収縮期血圧、拡張期血圧、LDL コレステロール値、HDL コレステロール値、ヘモグロビン A1c 値においても有意な違いは認められなかった。

次に我々は、肥満 (BMI 27.5 以上) とそれぞれの SNP との関連について、ロジスティック回帰分析を用い、オッズ比を算出した(表 4、5、6)。それぞれ、additive、dominant、recessive の 3 種類の genetic model で解析

表 1. ADRB2 遺伝子型別の基本属性

	A/A		A/G		G/G		P
人数	831	(22.7)	1845	(50.6)	971	(26.6)	
年齢	43.0	(11.4)	42.4	(11.6)	42.8	(11.4)	0.50
BMI	24.2	(3.8)	24.0	(3.8)	24.1	(3.6)	0.53
収縮期血圧	126.8	(15.9)	125.6	(15.1)	125.3	(14.3)	0.08
拡張期血圧	77.9	(11.7)	76.5	(11.1)	76.8	(11.2)	0.04
LDL-C	118	(31.3)	117.1	(30.8)	118.4	(30.8)	0.57
HDL-C	55.6	(13.7)	55.5	(13.3)	56.0	(13.4)	0.59
HbA1c	5.1	(0.7)	5.1	(0.8)	5.1	(0.7)	0.78

表 2. ADRB3 遺伝子型別の基本属性

	T/T		T/C		C/C		P
人数	2388	(65.5)	1124	(30.8)	135	(3.70)	
年齢	42.38	(11.4)	43.12	(11.6)	43.17	(11.4)	0.18
BMI	24.1	(3.7)	24.2	(3.8)	24.4	(3.7)	0.51
収縮期血圧	126.8	(15.9)	125.6	(15.1)	125.3	(14.3)	0.53
拡張期血圧	77.68	(11.7)	76.49	(11.1)	76.77	(11.2)	0.42
LDL-C	118	(31.3)	117.1	(30.8)	118.4	(30.8)	0.27
HDL-C	55.55	(13.7)	55.52	(13.3)	56.05	(13.4)	0.73
HbA1c	5.11	(0.7)	5.093	(0.8)	5.087	(0.7)	0.66

表 3. UCP1 遺伝子型別の基本属性

	A/A		A/G		G/G		P
人数	831	(22.7)	1845	(50.6)	971	(26.6)	
年齢	42.97	(11.4)	42.43	(11.6)	42.76	(11.4)	0.83
BMI	24.0	(3.8)	24.1	(3.7)	24.2	(3.8)	0.45
収縮期血圧	126.8	(15.9)	125.6	(15.1)	125.3	(14.3)	0.74
拡張期血圧	77.68	(11.7)	76.49	(11.1)	76.77	(11.2)	0.30
LDL-C	118	(31.3)	117.1	(30.8)	118.4	(30.8)	0.29
HDL-C	55.55	(13.7)	55.52	(13.3)	56.05	(13.4)	0.05
HbA1c	5.11	(0.7)	5.093	(0.8)	5.087	(0.7)	0.31

を実施した。Additive model では、UCP1 の G/G 保有者は、A/A 保有者と比較して、わずかながら統計学的有意差は認められなかったが、オッズ比が 1.33 で、BMI 27.5 以上の者の割合が高くなっていた。P for trend もわずかながら統計学的有意差には届かなかった。それ以外の ADRB2 および ADRB3 SNP では有意な差は認められなかった。dominant、recessive model では、有意な差は認められなかった。

そこで、我々は、3 つの SNP のリスクアレルの数の総和を genetic risk score(GRS)とし、GRS と肥満 (BMI 27.5 以上) との関連に

表 4. ADRB2 遺伝子多型と肥満との関連

	肥満者	非肥満者	OR*	(95%CI)	P
	N (%)	N (%)			
A/A	147(15.1)	824(84.9)	1.00	Reference	
A/G	310(16.8)	1535(83.2)	1.14	(0.91-1.44)	0.26
G/G	137(16.5)	824(83.5)	1.10	(0.83-1.44)	0.52
P for trend=0.49					
A/A	147(15.1)	824(84.9)	1	Reference	
A/G+G/G	447(16.7)	2229(83.3)	1.13	(0.1-1.40)	0.29
A/A+A/G	457(16.2)	2359(83.8)	1.00	Reference	
G/G	137(16.5)	694(83.5)	1.00	(0.79-1.25)	0.98

\* 年齢、飲酒習慣、喫煙習慣、運動習慣、地域で補正

表 5. ADRB3 遺伝子多型と肥満との関連

	肥満者	非肥満者	OR*	(95%CI)	P
	N (%)	N (%)			
T/T	383(16.0)	2005(84.0)	1.00	Reference	
T/C	186(16.5)	938(83.5)	1.08	(0.88-1.33)	0.45
C/C	25(18.5)	110(81.5)	1.22	(0.75-1.93)	0.40
P for trend= 0.29					
A/A	383(16.0)	2005(84.0)	1.00	Reference	
A/G+G/G	211(18.5)	1048(83.3)	1.10	(0.90-1.34)	0.35
A/A+A/G	569(16.2)	2943(83.8)	1.00	Reference	
G/G	25(18.5)	110(81.5)	1.19	(0.73-1.87)	0.46

\* 年齢、飲酒習慣、喫煙習慣、運動習慣、地域で補正

表 6. UCP1 遺伝子多型と肥満との関連

	肥満者	非肥満者	OR*	(95%CI)	P
	N (%)	N (%)			
A/A	136(14.5)	803(85.5)	1.00	Reference	
A/G	295(16.1)	1533(83.9)	1.14	(0.90-1.45)	0.29
G/G	163(18.5)	717(81.5)	1.33	(1.02-1.74)	0.04
P for trend= 0.04					
A/A	136(14.5)	803(85.5)	1.00	Reference	
A/G+G/G	458(16.9)	2250(83.1)	1.20	(0.96-1.50)	0.11
A/A+A/G	431(15.6)	2336(84.4)	1.00	Reference	
G/G	163(18.5)	717(81.5)	1.22	(0.98-1.51)	0.07

\* 年齢、飲酒習慣、喫煙習慣、運動習慣、地域で補正

ついてオッズ比を算出した。GRS が 0 の群、すなわち全て Wild type 群をリファレンスとすると、リスクアレルを 1 つでも持つ者は、BMI27.5 以上の肥満のリスクが約 3 倍有意に

高くなっていった。また、有意な P for trend も認められた(P for trend=0.04)。

表 8. Genetic risk score と肥満との関連

GRS	肥満者	非肥満者	OR*	(95%CI)	P
	N (%)	N (%)			
0	11(6.4)	160(93.6)	1.00	Reference	
1-2	315(16.6)	1587(83.4)	3.17	(1.69-6.78)	0.001
3-5	265(17.0)	1296(83.0)	3.21	(1.70-6.88)	0.001
6	3(23.1)	10(76.9)	5.14	(1.00-21.42)	0.03

P for trend= 0.04

\* 年齢、飲酒習慣、喫煙習慣、運動習慣、地域で補正

### 考察

本研究は、3648 名の日本人男性労働者の DNA サンプルを用い、ADRB2、ADRB3 および UCP1 の SNP と肥満との関連について疫学調査を実施した。

本研究で測定した 3 遺伝子は、エネルギー代謝に関連しており、日本人において高頻度に発現する SNP である。そのため、これら 3SNP と肥満との関連に関する研究はこれまでにいくつかの先行研究がなされている。ADRB3 については、Yamakita ら日本人肥満者における 4 年間のコホート研究(2)では、Arg アレルを持つ対象者は、Arg アレルを持たない者に比べて有意な体重増加が認められた。また、Kurokawa らの 44833 名を対象とした ARB3 と BMI との関連に関するメタアナリシス(3)では、ヨーロッパ人では、有意な関連が認められず、東アジア人において Trp(64)Arg mutation が BMI と関連がある可能性を示唆しているが、個々の遺伝子多型による BMI への影響は小さいと結論づけている。Matsushita らの 746 名の日本人における 10 年間の縦断研究(4)では、Trp(64)Arg の mutation を持つ者に体重および BMI に有意な違いは認められなかった。本研究においても、ARB3 と BMI および BMI27.5 以上の肥満に有意な違いは認められなかった。また、Mori らの 278 名の日本人男性を対象とした先行研究(5)では、皮下脂肪蓄積による肥満と有意な関連が認められた。しかしながら、Iwamoto らの 251 名の非肥満者と肥満者を対象とした脂肪肝発症との関連を調べた研究(6)では、BMI 25 以上の割合に有意な違いは認められなかった。UCP1 では、Hayakawa らは、214 名の日本人を対象に ADRB3 と UCP1 の遺伝子多型を測定し、UCP1 遺伝子多型と肥満に弱い関連が認められたと報告している(7)。

このように、これまでの先行研究では、メタアナリシスを除くと、対象者数も数百名に限られており、3 つの遺伝子多型の組み合わせによる肥満への影響については、ほとんど研究がなされていない。Tsunekawa らは、本研究と同様に ADRB2、ADRB3 および UCP1 の SNP

を測定し、内臓脂肪蓄積との関連を調査している(8)。その結果、3 つの SNP のリスクアレルの数が 0~3 の者に比べて、4~5 個持つ者は waist to hip ratio が有意に高いことを報告している。しかしながら、BMI に有意な差は認められていない。

本研究は、対象者が約 3600 名となる比較的規模の大きな集団を用いた。本研究では、UCP1 では、additive model において、BMI27.5 以上の肥満とわずかながら正の関連の可能性が認められたが、いくつかの先行研究と同様に、個々の SNP には、肥満と有意な関連は認められなかった。しかしながら、3 つの SNP を組み合わせることにより、肥満と SNP とに個々の遺伝子多型では認められなかった有意な関連が認められた。3SNP のリスクアレルを一つも持たない者に比べて、リスクアレルを持つ SNP を一つでも保有している者は、BMI 27.5 以上の肥満のリスクが約 3 倍高くなっていった。これらの結果は、年齢、喫煙習慣、飲酒習慣、運動習慣および地域で補正しても、統計学的有意差が認められた。

個々の遺伝子多型による影響は、比較的小さいため、複数の遺伝子多型の組み合わせにより、より強い影響を与える可能性が示唆された。本研究は、今後は、複数の遺伝多型が肥満をはじめとした生活習慣病の発症に影響するかどうか前向き研究を実施する予定である。

### <引用文献>

1. Zheng W, McLerran DF, Rolland B et al. Association between body-mass index and risk of death in more than 1 million Asians. *N Engl J Med.* 2011; 364: 719-29.
2. Yamakita M, Ando D, Tang S et al. The Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene is associated with weight changes in obese Japanese men: a 4-year follow-up study. 2010; 29: 133-9.
3. Kurokawa N, Young EH, Oka Y et al. The ADRB3 Trp64Arg variant and BMI: a meta-analysis of 44 833 individuals. *Int J Obesity.* 2008; 32: 1240-9.
4. Matsushita Y, Yokoyama T, Yoshiike N et al. The Trp(64)Arg polymorphism of the beta(3)-adrenergic receptor gene is not associated with body weight or body mass index in Japanese: a longitudinal analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 5914-20.
5. Mori Y, Kim-Motoyama H, Ito Y et al. The Gln27Glu beta2-adrenergic receptor

variant is associated with obesity due to subcutaneous fat accumulation in Japanese men. Biochem Biophys Res Commun. 1999; 258: 138-40.

6. Iwamoto N, Ogawa Y, Kajihara S et al. Gln27Glu beta2-adrenergic receptor variant is associated with hypertriglyceridemia and the development of fatty liver. clin chim Acta. 2001; 314: 85-91.

7. Hayakawa T, Nagai Y, Taniguchi M et al. Phenotypic characterization of the beta3-adrenergic receptor mutation and the uncoupling protein 1 polymorphism in Japanese men. Metabolism. 1999; 48: 636-40.

8. Tsunekawa K, Yanagawa Y, Aoki T et al. Association between accumulation of visceral fat and the combination of 3 adrenergic receptor Trp64Arg, 2 adrenergic receptor Arg16Gly and uncoupling protein 1 -3826A>G polymorphisms detected by Smart Amplification Process 2. Endocr J. 2011; 58: 1079-86.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0件)

[学会発表](計 1件)

日本薬学会第 135 回総会(神戸): 今任拓也  
日本人男性労働者における脱共役タンパク質 1 および  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$  アドレナリン受容体遺伝子多型と Body Mass Index との関連に関する疫学研究

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

今任 拓也 (IMATOH, Takuya)

国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部・主任研究官

研究者番号: 20368989

##### (2) 研究分担者

なし ( )

研究者番号:

##### (3) 連携研究者

なし ( )

研究者番号: